



Doença Hepática Crónica e o Zinco

Um estudo retrospectivo sobre o zinco e seu impacto na doença hepática crónica numa população de doentes do Centro Hospitalar Lisboa-Norte.

Orientador: Professor Doutor Fernando Ramalho, MD, MSc, PhD;

Aluno: Paulo Sérgio Marinheiro Guariento, Aluno 6º ano do MIM;

Resumo

Os valores de zinco sérico encontram-se diminuídos na doença hepática crónica e correlacionam-se com a progressão e complicações da mesma. Com este estudo retrospectivo pretendemos despertar o interesse e iniciar a investigação em Portugal sobre este tema determinando se existe défice em zinco sérico na doença hepática crónica e se os valores se correlacionam com os diferentes estádios de gravidade e complicações da mesma. Foram identificados 87 participantes com doença hepática crónica e cirrose hepática já estabelecida, compreendidos entre Janeiro de 2014 à Janeiro de 2016. Foram colhidos dados demográficos, laboratoriais, zinco sérico, Child-Pugh, MELD, presença de ascite, encefalopatia hepática e carcinoma hepatocelular. Utilizou-se o software SPSS 19 para cálculos estatísticos. A média de zinco sérico obtida foi de 7,28 micromol/L. Verificou-se uma diminuição significativa dos valores de zinco sérico com o aumento do Child-Pugh, MELD, na presença de ascite e encefalopatia hepática. Doentes com carcinoma hepatocelular apresentaram valores de zinco sérico superiores à doentes sem carcinoma hepatocelular. Concluímos assim que existe um défice em zinco sérico na doença hepática crónica e que os valores de zinco diminuem com a progressão da doença e aparecimento de complicações, realçando o potencial do zinco sérico como biomarcador nesta patologia.

Serum zinc values are reduced in chronic hepatic disease and are correlated with it's progression and complications. With this retrospective study we aim to awake the interest and incentivate the investigation in Portugal about this subject by determining if there is a deficiency of serum zinc in chronic hepatic disease and if the values are correlated with the severity and complications of the disease. We identified 87 participants with chronic hepatic disease and hepatic cirrhosis established in a period between January 2014 to January 2016. Demographics, laboratory data, serum zinc, Child-Pugh, MELD, presence of ascites, hepatic encephalopathy and hepatocellular carcinoma were collected. SPSS 19 was used for data analysis. The medium serum zinc concentrations was 7,28 micromol/L. There was a significant decrease of serum zinc values with the increase of Child-Pugh and MELD, in the presence of ascites and hepatic

encephalopathy. Patients with hepatocellular carcinoma presented higher serum zinc values in comparison to patients without hepatocellular carcinoma. We concluded that there is a deficiency of serum zinc in chronic hepatic disease and that serum zinc values diminishes with progression of the disease and it's complications, standing out the potencial of serum zinc as a biomarker in this situation.

Introdução

Objectivos

Primary End Points:

1. Há um défice em zinco sérico nos doentes portadores de doença hepática crónica com cirrose hepática estabelecida?
2. Existe alguma correlação estatisticamente significativa entre os valores de zinco sérico e os diferentes estádios de gravidade e complicações da doença hepática crónica com cirrose hepática estabelecida?

Secondary End Points:

1. A etiologia alcoólica apresenta diferenças estatisticamente significativas nos valores de zinco sérico comparativamente às etiologias não alcoólicas?

Justificação para o Estudo e Usos Potenciais

O zinco sérico possui um potencial por explorar como marcador de progressão da doença hepática crónica e do aparecimento das suas complicações, tais como ascite, encefalopatia hepática, varizes esofágicas e carcinoma hepatocelular, permitindo a detecção precoce de grupos de doentes com risco aumentado de complicações. Por outro lado, a suplementação em zinco na doença hepática crónica e suas complicações apresenta-se como terapêutica complementar promissora nos vários estádios, desde a hepatite crónica até a cirrose hepática descompensada e carcinoma hepatocelular. Neste sentido, estes doentes poderão potencialmente beneficiar do *screening* com os valores de zinco sérico dispondo de mais um biomarcador da doença hepática crónica e suas complicações, e da terapêutica de suplementação com zinco através da normalização dos valores de zinco sérico com melhoria dos sintomas associados às manifestações da cirrose hepática, redução da incidência e gravidade de complicações, e possivelmente uma redução da incidência do carcinoma hepatocelular.

Em suma, este cenário em que o zinco sérico se apresenta poderá permitir uma redução dos custos em saúde associados ao tratamento da doença hepática crónica, levando à um melhor aproveitamento dos recursos do SNS português bem como uma melhoria do diagnóstico, tratamento, outcome clínico e qualidade de vida destes doentes. É sobre este potencial significativo do zinco sérico, ainda não reconhecido em Portugal, que o presente estudo intenciona dar os primeiros passos servindo de base e incentivo para investigações futuras nesta área.

Revisão da Literatura

A doença hepática crónica representa um espectro alargado de etiologias que condicionam alterações em diversos graus à estrutura morfológica, celular, vascular e funcional do fígado, com implicações nas suas funções de síntese, armazenamento e metabolização. Dentro das diversas etiologias podemos destacar 4 grupos principais com elevada prevalência, mortalidade e custos, nomeadamente virais (ex. vírus da hepatite B, C e D), tóxicas (ex. álcool), auto-imunes (ex. colangite biliar primária e colangite esclerosante primária) e hereditárias/metabólicas (ex. hemocromatose, doença de wilson). A manifestação inicial desta patologia pode apresentar-se sob as formas mais diversas, desde de uma hepatite aguda (HA) à descompensação de uma cirrose hepática (CH) e hipertensão portal (HTP) já estabelecidas. Numa sistematização temporal podemos falar em, hepatite aguda, hepatite crónica, diferentes graus de fibrose hepática com posterior evolução para cirrose hepática com hipertensão portal e as complicações decorrentes (varizes esofágicas, encefalopatia hepática, peritonite bacteriana espontânea, etc), sendo que o desenvolvimento do carcinoma hepatocelular (CHC) pode ocorrer em diferentes momentos nesta linha temporal, e por fim a insuficiência hepática (IH) culminando na morte do doente.

Em Portugal as principais etiologias de doença hepática crónica são a alcoólica e as infeções pelo vírus da hepatite C (VHC) e hepatite B (VHB). Estas três etiologias somam um número superior a 400.000 doentes em Portugal (cerca de 3,5% da população portuguesa), muitos ainda por diagnosticar [1,2]. A cirrose hepática, que resulta da evolução da fibrose da doença hepática crónica, quando descompensada apresenta-se como uma das principais causas de morte em Portugal, apresentando segundo o instituto nacional de estatística (INE) uma mortalidade nos

homens portugueses de 18,3% por 100.000 habitantes [3]. Entre 20% dos casos de morte por CH e 50% dos casos de morte por CHC possuem o VCH implicado. Em 2008 registrou-se em Portugal 1537 mortes por CH e 893 por CHC. Apesar da frequência de complicações da cirrose hepática descompensada ter-se mantido estável nos últimos anos, a mortalidade por CHC duplicou na última década devido ao aumento da longevidade dos doentes cirróticos e do impacto das infeções víricas. No que toca aos transplantes hepáticos, dados do ministério da saúde referentes a 2003 mostram que estamos longe do ideal. Considera-se no USA e na Europa um valor ideal para transplantes 50 dadores por milhão de habitantes. Em Portugal em 2001 possuíamos cerca de 20 dadores por milhão. Em 2001 realizaram-se em Portugal 177 transplantes hepáticos. Em 2010 foram realizados 245 transplantes hepáticos, dos quais cerca de 50 devidos ao VHC, resultando numa média de 23,0 transplantes por milhão de habitante (pmh), claramente superior à média da União Europeia de 9,2 transplantes pmh. Este aumento do número de transplantes reflete o aumento da prevalência da doença hepática crónica bem como implica gastos volumosos para o SNS [1-5].

Relativamente aos custos para o SNS, apenas a infeção pelo VHC apresentou em 2013 gastos na ordem dos 71 milhões (M) de euros (€), onde cerca de 83% destes gastos foram direcionados às complicações e transplantes. Isto significa que em 2013, onde aproximadamente 9,1% do produto interno bruto (PIB) foi utilizado em saúde [6,87], a infeção pelo VHC ocupou cerca de 0,5% dos gastos em saúde. Um estudo realizado em 2013 em Portugal intitulado “O Impacto da Hepatite C em Portugal” [2], refere que o custo anual médio por doente e por estágio foi estimado em 432€ na hepatite C crónica, 522€ na cirrose hepática compensada, 11.103€ na cirrose hepática descompensada e 17.128€ no CHC. Estes valores foram calculados considerando apenas o seguimento clínico do doente (excluindo os custos associados ao diagnóstico da doença e custos de um eventual tratamento antiviral). O custo anual médio por doente transplantado foi estimado em 116.154 € no primeiro ano (incluindo transplante) e 6.886 € nos seguintes. Somando os gastos de outras etiologias com alta prevalência na doença hepática crónica veremos rapidamente um aumento de despesas para o SNS.

Deste modo, estes dados permitem concluir que a doença hepática crónica apresenta uma mortalidade elevada principalmente no estágio de cirrose descompensada e aquando da

necessidade de transplante hepático, bem como custos elevadíssimos para o SNS. Torna-se assim imperioso a prevenção e diagnóstico precoce deste grupo de patologias, bem como evitar a progressão para estadios mais avançados. É neste contexto que o zinco sérico e a suplementação em zinco aparecem como elementos promissores na detecção precoce de grupos de risco, nomeadamente na identificação do grau de fibrose hepática e identificação de varizes esofágicas com risco de ruptura em cirrose compensada, bem como na predição e melhoria do outcome clínico da CH [24, 36, 37]. Deste modo, será possível uma redução de despesas para o SNS bem como um diagnóstico precoce de complicações e tratamento mais eficaz destes doentes, resultando numa melhoria dos prognósticos e aumento da qualidade de vida.

O Zinco é o segundo elemento vestigial mais prevalente no corpo humano, funcionando com co-factor em mais de 300 enzimas e 1000 factores de transcrição. É um elemento importante para o crescimento e diferenciação celular, metabolismo proteico, resposta imune adequada, função sexual, cognição e visão noturna [7]. Em termos de distribuição pelo organismo, cerca de 85% localiza-se a nível de ossos e músculos, 11% no fígado e os restantes 4% distribuem-se pelos vários tecidos do organismo. Encontra-se em grandes quantidades em alimentos como mariscos, moluscos, ostras, carne vermelha, porco, galinha e vísceras [42]. Os mecanismos fisiológicos de regulação do zinco ainda não são totalmente conhecidos e compreendidos. Sabe-se que as concentrações séricas de zinco resultam dum equilíbrio entre a sua ingestão e absorção a nível do tracto gastrointestinal, distribuição pelos diversos tecidos e mecanismos fisiológicos de excreção a nível urinário, nas fezes e através da pele [10,16,41,42]. O fígado possui um papel importante neste processo. Por um lado o zinco absorvido pelo tracto gastrointestinal é transportado pela circulação porta até ao fígado onde é então distribuído pela circulação sistémica aos restantes órgãos. Por outro lado, *Faure et al* [40] estabeleceram que o zinco é transportado no plasma ligado à albumina (~77%), globulinas (~20%) e componentes de baixo peso molecular como amino ácidos e citratos (~3%), permitindo o seu transporte para o fígado e diversos tecidos periféricos. O seu uptake celular depende da presença de transportadores na membrana plasmática da família ZIP (Slc39A) e a sua exportação celular é realizada pelas proteínas transportadoras ZnTs (SLC30), ambas muito abundantes nas membranas dos hepatócitos [10,41,42].

O défice em zinco pode levar a alterações do crescimento, disfunções cognitivas e comprometimento da resposta imune, bem como afetar a capacidade de regeneração dos hepatócitos. Igualmente, manifestações dum défice severo em zinco incluem: *bullous pustular dermatitis*, diarreia, alopecia, alterações emocionais, perda de peso, hipogonadismo em homens, alterações neuro-sensoriais, dificuldade na cicatrização de úlceras e infeções recorrentes devido a disfunções na imunidade celular [7,11,42]. Assim, em 1974 o *National Research Council of the National Academy of Sciences* nos EUA declarou o zinco como um elemento essencial para os seres humanos e estabeleceu uma dose diária recomendada. Em 1978, a *Food and Drug Administration* nos EUA tornou obrigatório a inclusão do zinco nos fluídos de nutrição parentérica [8,9]. A suplementação com zinco já demonstrou utilidade na prevenção e tratamento de diarreia em crianças com idade inferior a 5 anos, diminuindo a severidade da diarreia, morbilidade e mortalidade. Deste modo, a Organização Mundial de Saúde (OMS) emitiu em 2004 uma recomendação para a suplementação diária com zinco para crianças que se apresentassem com diarreia [7,12]. Em 1984 *Eby et al.* [12] demonstraram que a administração de zinco é eficaz na diminuição da severidade e duração da gripe. *Brewer et al.* [14,15] observaram que a utilização de zinco para o tratamento da drepanocitose resultava numa deficiência em cobre, o que levou-os a desenvolver o zinco como um fármaco anti-cobre eficaz no tratamento da doença de Wilson. Vemos então os diversos efeitos que a suplementação em zinco apresenta para o organismo humano, bem como as suas aplicações terapêuticas já estabelecidas. Verifica-se assim a importância deste metal na saúde e na doença.

Mais especificamente, no que toca à doença hepática crónica, muitas das manifestações da cirrose hepática já foram relacionadas com o défice em zinco sérico. Tais como: perda de pelos corporais, atrofia testicular, diminuição do apetite, disfunção imune, alterações no gosto e sabor, alterações do metabolismo tiroideu, alterações no metabolismo proteico, atraso na cicatrização de feridas e capacidade diminuída de metabolizar fármacos [15, 16]. Em 1956 *Vallee et al.* [17] fizeram a primeira associação entre doença hepática crónica e défice em zinco, onde referem que o grau de défice depende da etiologia e severidade da doença. Desde então múltiplos estudos referem a presença de défice em zinco na doença hepática crónica [17-20,41,42]. Apesar de ainda não estar totalmente esclarecido, diversos mecanismos foram propostos para explicar o défice em zinco na doença hepática crónica, tais como: ingestão insuficiente por má nutrição na cirrose

hepática, alterações no metabolismo de aminoácidos, extração hepática de zinco sérico diminuída, shunts porto-sistémicos, absorção intestinal reduzida, aumento do stress oxidativo hepático e aumento da excreção renal de zinco devido ao abuso em álcool, citocinas inflamatórias como o IL-6, uso de diuréticos no tratamento de ascite, entre outros [16, 18, 21-23,42].

Igualmente, múltiplos estudos referem, para além do défice em zinco na DHC, uma correlação entre a progressão da DHC e a diminuição dos valores de zinco sérico, bem como uma melhoria na lesão hepática após a suplementação em zinco. *Iwata et al.* [24] referem que os valores de zinco são inferiores nos pacientes com cirrose hepática e carcinoma hepatocelular comparativamente aos doentes com hepatite crónica. No seu estudo de 2014 observou que os valores de zinco sérico diminuem com a progressão da fibrose nas hepatites virais crónicas, mesmo antes do aparecimento de cirrose. Para além disso, nos doentes com hepatite viral crónica, os que apresentavam varizes possuíam valores inferiores aos doentes sem varizes. E quanto maior o risco de ruptura das varizes, estabelecido através de endoscopia digestiva alta, maior o défice em zinco. *Sengupta et al.* [25] num estudo de 2014 concluíram que o défice em zinco sérico é muito prevalente na CH principalmente nos estadios Child Pugh B e C e MELD superior a 15. Doentes com défice foram associados à uma pior taxa de sobrevivência sem transplante hepático. As concentrações séricas mais baixas verificaram-se nas etiologias alcoólicas, VHC e colestáticas, bem como na presença de ascite, encefalopatia hepática, infecção e uso de diuréticos. Relativamente à encefalopatia hepática *Grungreiff et al.* [26] num *follow up* de longo termo em doentes com cirrose hepática, défice em zinco e encefalopatia hepática de graus 0 à II, demonstraram que a suplementação em zinco levou à um aumento das concentrações de zinco sérico, diminuição da amónia plasmática e em cerca de metade dos doentes levou a melhorias dos estados de encefalopatia hepática. O défice em zinco é proposto como mecanismo etiológico por condicionar alterações do metabolismo proteico, o que por sua vez aumenta os níveis de amónia, podendo despoletar casos de encefalopatia hepática [16,25,36]. Relativamente ao CHC, *Danielsen e Steinnis* [27] em 1970 reportaram diminuições marcadas dos níveis de zinco nos tecidos de CHC comparativamente com tecido hepático saudável. *Kew et Mallett* [43] demonstraram no seu estudo em 1974 uma diminuição das concentrações de zinco no tecido hepático em doentes com CHC e CH + CHC em comparação com figados saudáveis. *Costello et Franklin* referem no seu estudo de 2014 que cerca de 60-90% dos casos de CHC apresentam cirrose e que existe evidência para

suportar a visão de que a diminuição de zinco nos hepatócitos é importante na associação entre cirrose e CHC [28,29]. Chamam igualmente atenção para o facto de estudos *in vitro* e *in vivo* em animais demonstrarem um efeito citotóxico do zinco em células malignas. Propõem assim que um aumento na biodisponibilidade em zinco em doentes cirróticos pode suprimir o efeito carcinogénico do défice deste metal na cirrose hepática [30-35].

Como vemos, há já uma extensa literatura que relaciona o défice em zinco sérico com a DHC, as complicações da CH e HTP e possivelmente o CHC. Esta realidade abriu portas à investigação com suplementação em zinco na DHC e os seus efeitos no *outcome* clínico dos doentes. *Katayama et al.* [36] em 2011 estudaram os efeitos a longo prazo da suplementação com zinco em doentes com CH por VHC. Os investigadores reportam que apesar da administração de zinco não melhorar a taxa de sobrevivência sem CHC, os valores de zinco sérico pré-tratamento bem como valores de zinco sérico inferiores a 12.2 micromol/L após 12 meses de suplementação são determinantes significativos de carcinogénese e morte. Já *Matsuoka et al.* [37] em 2009, num estudo realizado a doentes com hepatite crónica e CH por VHC tratados com suplementação em zinco, reportam um aumento nas concentrações séricas de zinco, melhoria do dano hepático (medido pelos valores séricos de AST e ALT) e uma diminuição da incidência cumulativa de CHC no grupo de doentes que aumentou a sua concentração de zinco sérico em resposta à suplementação com zinco.

Em suma, a informação disponível a nível internacional sobre o zinco na doença hepática crónica é vasta e demonstra não só a existência do défice em zinco mas também a sua correlação e agravamento com a progressão da fibrose hepática, manifestações da CH e HTP, tais como ascite, infecções, varizes esofágicas e encefalopatia hepática, presença de CHC, e o possível papel na etiologia do CHC. Reforça-se assim o plausível papel do zinco sérico como marcador de gravidade da DHC e suas complicações, permitindo uma estratificação de doentes. Para além disto, estudos prospectivos com suplementação em zinco mostram a possibilidade de se utilizar o zinco sérico como terapêutica complementar nalgumas complicações da DHC, nomeadamente na encefalopatia hepática e no CHC, procurando um melhor *outcome* clínico com diminuição da mortalidade nesta situações bem como reduções de custo para o SNS. É neste contexto que

procuramos dar os primeiros passos em Portugal sobre o zinco na doença hepática crónica, esperando aprofundar e incentivar a investigação sobre este elemento potencial.

Métodos e procedimentos

Desenho do Estudo

O estudo baseou-se por um lado numa parte teórica, nomeadamente numa revisão da literatura sobre o zinco e a doença hepática crónica, fazendo uso de artigos científicos, livros de referência e outras fontes credíveis disponíveis online ou em papel. Esta parte teórica serviu como sustento e justificação para a parte prática do estudo, permitindo formular as questões deste projeto bem como fundamentar a sua pertinência.

Por outro lado, foi dotada de uma parte prática, nomeadamente dum estudo observacional retrospectivo. Para tal foi criada uma base de dados em computador, utilizando o programa excel, composta por doentes internados na Unidade de Hepatologia do Hospital de Santa Maria (HSM) entre o período de janeiro de 2014 e janeiro de 2016. Para este efeito foram utilizados os dados disponíveis no sistema informático do hospital bem como nos dossiers dos doentes. Deste modo, foi necessário o acesso a Unidade de Hepatologia e computadores do serviço, bem como aos ficheiros dos doentes. O anonimato foi sempre mantido através da identificação dos doentes pelo número do processo.

Após a colheita de todas as informações necessárias, a base de dados foi alvo de análise estatística através do programa SPSS 19 para a obtenção de resultados que permitiram responder às perguntas colocadas neste estudo. O estudo em causa não foi patrocinado por nenhuma empresa ou outro particular e não possuímos conflitos de interesse a declarar.

População em Estudo

Doentes internados na Unidade de Hepatologia do HSM entre as datas de janeiro de 2014 à janeiro de 2016.

Definem-se como critérios de inclusão os seguintes:

- Doença hepática crónica de etiologia viral, alcoólica, auto-imune, metabólica e/ou hereditária;

- Doentes com os seguintes parâmetros disponíveis para consulta: Idade; Sexo; Etiologia; Presença ou ausência de cirrose hepática; Bilirrubina total; Albumina; INR; Creatinina sérica; Zinco sérico; Presença ou ausência de ascite, encefalopatia hepática e CHC.
- Devem ser utilizados os primeiros valores obtidos no internamento mais recente.
- Caso a data de colheita sanguínea para determinação do valor de zinco sérico não seja a mesma para os restantes parâmetros acima definidos, poderá haver um desfazamento de no máximo 1 semana.

Definem-se como critérios de exclusão os seguintes:

- Doentes que estejam a receber ou já receberam tratamento anti-viral para hepatite B e/ou C ou que já estejam em resposta virológica sustentada.
- Doentes que estejam a receber tratamento sobre a forma de suplemento em zinco.
- Doentes que não possuam todos os critérios acima referidos.

Variáveis em Estudo

- Idade
- Sexo
- Etiologia
- Cirrose hepática
- CHC, dividido nos seguintes grupos: ausência; presença
- Ascite, dividida nos seguintes grupos: “ausência”; “controlada por fármacos”; “mal controlada por fármacos” (refratária à terapêutica médica com internamentos recorrentes por descompensação)
- Encefalopatia Hepática, dividida nos seguintes grupos: “ausência”; “controlada por fármacos”; “mal controlada por fármacos” (refratária à terapêutica médica com internamentos recorrentes por descompensação)
- INR
- Creatinina sérica
- Albumina sérica

- Bilirrubina total
- Zinco sérico
- Child-Pugh
- MELD

Tratamento e Análise de Dados

Os dados registados numa base de dados excel online foram analisados com recurso ao programa estatístico *SPSS 19*.

Foram realizados cálculos demográficos, nomeadamente idade média, distribuição por géneros e prevalência de etiologias. Foi calculado o valor médio de zinco sérico na população bem como definida a percentagem de doentes que apresenta défice em zinco. Utilizou-se como referência para a definição de défice ou ausência de défice em zinco o intervalo de valores de concentração sérica estabelecidos pelo laboratório do Hospital de Santa Maria (10,7-18,3 micromol/L).

Os valores de zinco foram estudados enquanto variável quantitativa e também categórica (divididos em dois grupos “Défice”/”Ausência de Défice”) para permitir o cálculo de percentagens de doentes com défice no total da população, nos estadios de Child-Pugh, MELD, graus de ascite e encefalopatia hepática e presença/ausência de carcinoma hepatocelular.

Para a comparação dos valores de zinco nas diferentes etiologias estas foram divididas em “Álcoolicas” e Não Álcoolicas”. O primeiro grupo inclui os doentes que apenas possuem álcool como etiologia da sua doença hepática crónica. O segundo grupo inclui todos os doentes que possuem uma ou mais etiologias de doença hepática crónica que não o álcool.

Os valores de MELD foram estudados enquanto variável quantitativas e também categórica (agrupados em 5 escalões de acordo com a interpretação das taxas de mortalidade propostas na literatura internacional: <9; 10-19; 20-29; 30-39; >40). Os valores de Child-Pugh foram estudados divididos nos seguintes grupos: Estadio A, B e C.

Foram feitas comparações entre o zinco sérico e as diferentes etiologias de doença hepática crónica, estadios de Child-Pugh, MELD, Ascite, Encefalopatia e Carcinoma Hepatocelular. Para tal foram realizados cálculos de tendência central, estudadas as normalidades das variáveis quantitativas e utilizados análises de variância (ANOVA), teste *t-student*, teste de fisher, teste do

chi-quadrado e correlação de spearman consoante o caso. Todas as tabelas, figuras e cálculos relevantes encontram-se em anexo.

Resultados

O estudo incluiu um total de 87 doentes com diagnóstico de cirrose hepática por diversas etiologias, sendo que mais de 70% correspondem ao álcool e VHC/VHB. Na distribuição de géneros 73,6% dos participantes pertencem ao sexo masculino. A média de idades corresponde a aproximadamente 60 anos com um mínimo 27 e máximo 88 anos (Tabelas 1 à 3).

O valor médio de zinco sérico na população em estudo foi de 7,28 micromol/L, sendo que 86,2% (72/87) dos pacientes apresentava défice em zinco (Tabelas 4 e 5).

O estudo dos valores de zinco nas etiologias “álcoolica” vs “não álcoolica” demonstrou que o valor médio de zinco sérico no primeiro grupo é de 6,95 micromol/L e no segundo grupo de 8,2 micromol/L. Um teste *t-student* demonstrou que não há diferença estatisticamente significativa entre estas duas médias com um valor de $p=0,056$ (Tabela 6). No grupo da etiologia álcoolica 91,8% dos doentes apresentavam défice em zinco, enquanto que no grupo da etiologia não álcoolica apenas 68% dos doentes apresentavam este défice. Um teste de chi-quadrado revelou que a frequência observada de doentes com etiologia álcoolica e défice em zinco foi superior ao esperado (45 casos em 62 com um valor de $z=2.6$) e que a frequência observada de doentes com etiologia não álcoolica e défice em zinco foi inferior ao esperado (17 casos em 64 com um valor de $z=-2.6$). Esta diferença nas frequências obtidas é estatisticamente significativa com um valor de $p=0,009$ (Tabela 7).

No que toca à comparação entre o zinco e os estadios de Child-Pugh verificou-se que todas as classes (A, B e C) apresentavam um valor médio de zinco sérico abaixo do limite inferior do normal, nomeadamente 10,57 micromol/L para o estadio A, 7,61 micromol/L para o estadio B e 5,46 micromol/L para o estadio C (Tabela 8). As percentagens de doentes com défice em zinco nas diferentes classes foram: A: 46,7%; B: 89,5%; C 100,0% (Tabela 9). Através do teste *one way ANOVA* e dum teste de *Bonferonni post-hoc* demonstrou-se que a diminuição do valor médio de zinco sérico com o agravamento dos estadios de Child-Pugh é estatisticamente significativa com um valor de $p<0,001$ (Tabela 10).

Relativamente à comparação entre os valores de zinco e MELD os resultados demonstraram que todos os escalões de MELD apresentavam uma média de zinco abaixo do

limite inferior do normal, havendo uma diminuição progressiva destes valores com o avançar dos escalões (Tabela 11). O escalão MELD <10 apresentava défice em zinco em 54,5% dos casos e o escalão MELD 10-20 em 87,9% dos casos. A partir do escalão MELD 20-29 destaca-se que 100% dos casos apresentavam défice em zinco (Tabela 12). Através do teste *one way ANOVA* e um teste de *Bonferonni post-hoc* demonstrou-se uma diminuição estatisticamente significativa dos valores de zinco do escalão MELD <10 (9,36 micromol/L) para o escalão MELD 20-29 (6,15 micromol/L) e para o escalão MELD 30-39 (4,53 micromol/L) com $p=0,007$ e $p=0,018$ respectivamente. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os restantes grupos (Tabela 13). Um teste de Spearman demonstrou uma correlação moderada entre a diminuição dos valores de zinco e o aumento dos valores de MELD ($R_s -0.460$; $p<0,001$); (Tabela 14).

Na análise entre os valores de zinco sérico e a presença ou ausência de CHC verificou-se que os valores médios de zinco encontram-se abaixo do limite inferior do normal em ambos os grupos de CHC, sendo que os doentes com presença de CHC apresentavam valores médios de zinco sérico superiores aos doentes sem presença de CHC, 8,93 micromol/L e 6,79 micromol/L respectivamente (Tabela 15). Para além disto, apenas 70% dos doentes com CHC possuíam défice em zinco, enquanto que 91% dos doentes sem CHC apresentavam este défice (Tabela 17). Um teste *t-student* demonstrou que a média de zinco sérico em doentes com CHC é estatisticamente significativa mais alta que a média nos doentes sem CHC $t(87)=-3,036$ e $p=0,005$ (Tabela 16). Um teste de Chi-quadrado demonstrou que há uma associação estatisticamente significativa entre os grupos de zinco (“Défice”/”Ausência de défice”) e de CHC (“ausência”/”presença”) com um $p=0,017$, sendo que a análise dos valores residuais revelou que a frequência observada de doentes com défice em zinco e sem presença de CHC é superior ao esperado (61 casos em 75, com um valor de $z=2.4$) e que por outro lado a frequência observada de doentes com défice em zinco e com presença de CHC é inferior ao esperado (14 casos em 75, com um valor de $z=-2.4$), (Tabela 17).

O estudo entre os valores de zinco sérico e os estadios de ascite revelou que estes valores encontram-se abaixo do limite inferior do normal em todos os estadios e diminuem progressivamente com o agravamento da ascite (Tabela 18). Observou-se igualmente que a percentagem de doentes com défice em zinco aumenta com o avançar da ascite, sendo 80% no estadio “ausência” e 100% no estadio “mal controlada por fármacos” (Tabela 19). Uma análise de

variância *one way ANOVA* demonstrou uma diferença estatisticamente significativa entre as médias de zinco nos diferentes estadios de ascite ($p < 0,001$). Um teste de *Bonferonni post-hoc* permitiu observar que a média dos valores de zinco no estadio “mal controlada por fármacos” (5,20 micromol/L) é estatisticamente inferior em comparação com a média de zinco no estadio “controlado por fármacos” (7,47 micromol/L) e no estadio “ausência” (8,23 micromol/L) com valores de $p = 0,006$ e $p < 0,001$ respectivamente. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios de zinco sérico nos estadios “ausência” e “controlado por fármacos” (Tabela 20).

A análise dos valores de zinco sérico e os estadios de encefalopatia hepática revelou que a média de zinco encontra-se abaixo do limite inferior do normal em todos os estadios, diminuindo do estadio “ausência” (8,0 micromol/L) para o estadio “controlada por fármacos” (6,20 micromol/L) e aumentando ligeiramente no estadio “mal controlada por fármacos” (6,36 micromol/L), (Tabela 21). Para além disto, observou-se que a percentagem de doentes com défice em zinco aumenta com o avançar dos estadios de encefalopatia hepática, sendo 78,4% no estadio “ausência” e 100% no estadio “mal controlada por fármacos” (Tabela 22). Através duma análise de variância *one way ANOVA* verificou-se uma diferença estatisticamente significativa entre as médias de zinco nos diferentes estadios de encefalopatia hepática ($p = 0,007$). Um teste de *Bonferonni post-hoc* mostra uma diminuição estatisticamente significativa da média de zinco sérico entre o estadio “ausência” (8,0 micromol/L) em comparação com o estadio “controlada por fármacos” (6,2 micromol/L) com um valor de $p = 0,018$. Não foram demonstradas diferenças estatisticamente significativas nas médias de zinco sérico entre os estadios “ausência” vs “mal controlada por fármacos” e “controlada por fármacos” vs “mal controlada por fármacos” (Tabela 23).

Discussão e Conclusão

O Zinco é o segundo elemento vestigial mais prevalente no corpo humano, funcionando com co-factor em mais de 300 enzimas e 1000 factores de transcrição. É um elemento importante para o crescimento e diferenciação de células, metabolismo proteico, resposta imune adequada, função sexual, cognição e visão noturna [7]. Os mecanismos fisiológicos de regulação do zinco ainda não são totalmente conhecidos e compreendidos. Sabe-se que o fígado possui um papel importante neste processo pois faz o uptake e exportação celular do zinco absorvido no tracto gastrointestinal e transportado pelo sistema porta, faz a distribuição pela circulação sistémica e produz as proteínas plasmáticas transportadoras do zinco sérico, albumina e globulinas [10, 40-42]. O défice em zinco na cirrose hepática leva a perda de pelos corporais, atrofia testicular, diminuição do apetite, disfunção imune, alterações no gosto e sabor, alterações do metabolismo tiroideu, alterações no metabolismo proteico, atraso na cicatrização de feridas e capacidade diminuída de metabolizar fármacos [15]. A primeira associação entre doença hepática crónica e zinco é feita em 1956 *Vallee et al.* [17] onde referem que o grau de défice depende da etiologia e severidade da doença. Desde então múltiplos estudos referem a presença de défice em zinco na doença hepática crónica [17-20,41,42]. Para além do défice em zinco na DHC, vários artigos referem uma correlação entre a progressão da DHC e a diminuição dos valores de zinco [24,25,28]. Observou-se igualmente que as descompensações da DHC, nomeadamente ascite, varizes esofágicas e encefalopatia hepática apresentam diminuições mais significativas dos valores de zinco sérico, e que no caso desta última a suplementação com zinco pode aumentar as concentrações séricas em zinco e reverter clinicamente cerca de 50% dos casos [24,25,26]. Nos doentes com DHC e CHC os valores de zinco sérico e tecidual apresentam-se ainda mais diminuídos, havendo evidência que sugere o papel do défice em zinco na associação entre CH e CHC bem como no processo de carcinogénese [27-35]. Estudos com suplementação em zinco no outcome clínico de doentes com CH apontam num sentido dos valores séricos poderem ser determinantes significativos de carcinogénese e morte, bem como uma possível diminuição da incidência cumulativa de CHC [36,37].

Os resultados obtidos neste estudo vão, de uma maneira geral, no sentido dos estudos já aqui referidos, sobre a existência e correlação entre o défice em zinco na doença hepática crónica, a diminuição dos valores de zinco com o agravamento da doença hepática e suas complicações, realçando a utilidade do zinco como um possível biomarcador de gravidade na DHC. Todos os participantes neste estudo já se encontravam no estadio de cirrose hepática de acordo com a classificação METAVIR o que poderá limitar a interpretação dos nossos resultados para um exacto menos largo da DHC.

A população em estudo é caracterizada por uma média de idades de 60 anos e maior prevalência de doentes do sexo masculino (73,6%), o que está de acordo com as principais etiologias de doença hepática crónica, alcoólica e viral nomeadamente. Uma situação semelhante observa-se no estudo realizado por *Sengupta et al* [25] com 163 participantes com diversas etiologias de DHC, onde 64% de participantes eram sexo masculino, a média de idades 59 anos e o álcool e VHC representavam 67% das etiologias. Já *Iwata et al.* [24] apresentam um estudo com 576 doentes com VHC e VHB como etiologia da sua DHC em diversos graus de fibrose hepática (METAVIR), onde obtiveram uma percentagem superior de mulheres (54% vs 46% respectivamente) e uma média de idades de 61 anos. Estes resultados mostram-nos que as médias de idade nos diversos estudos que englobam DHC são sobreponíveis e avançadas devido provavelmente ao facto de a progressão para estadios mais graves, com cirrose e outras manifestações, ocorrer de uma maneira progressiva ao longo de anos nestas etiologias principais. Infere-se igualmente uma possível predominância do sexo masculino na etiologia alcoólica, uma questão possivelmente cultural, e do sexo feminino nas DHC por VHC/VHB principalmente pelas infecções decorrentes de transfusões sanguíneas infectadas antes do despiste de VHC no sangue transfundido.

O valor médio de zinco sérico obtido foi de 7,28 micromol/L, o que se encontra bastante abaixo do limite inferior de 10,7 micromol/L (valor de referência do laboratório do Hospital de Santa Maria) com uma prevalência extremamente elevada nos doentes cirróticos (86,2%). Estes valores vão ao encontro dos resultados obtidos noutros estudos. *Sengupta et al* [25] reportam um valor médio de 7,19 micromol/L (conversão de mcg/ml para micromol/L usando massa atómica de 65.38) e défice em 83% dos casos. *Matsuoka et al.* [37] no seu estudo sobre suplementação com

zinco em 62 participantes com hepatite crónica por VHC (n=48) e CH por VHC (n=14) obteve um valor médio de zinco sérico de 9,94 micromol/L e 8,1 micromol/L em cada grupo respectivamente. *Iwata et al.* [24] reportam valores de zinco sérico que diminuem com o aumento do grau de fibrose na escala METAVIR, sendo de 10,86 micromol/L para F0/1 e 9,64 micromol/L para F4. Já foram aqui referidos diversos mecanismos possíveis para o défice em zinco na DHC com cirrose hepática estabelecida. Especulamos em particular alguns mecanismos transversais à cirrose hepática de qualquer etiologia. Nomeadamente por um lado a congestão venosa no sistema porta e o *shunting* porto-sistémico decorrentes da CH e HTP podem levar à uma diminuição marcada da absorção de zinco a nível gastrointestinal e uptake hepático, com maior excreção nas fezes e urina. Por outro lado, a cirrose hepática associa-se à insuficiência hepática progressiva com diminuição da produção de albumina e globulinas, que por sua vez diminuem o transporte de zinco a nível do plasma, diminuindo igualmente a sua absorção gastrointestinal e uptake hepático, o que também aumenta a sua excreção urinária e fecal. Por fim, a lesão hepática da inflamação crónica na cirrose pode originar mutações adquiridas com disfunção do uptake e excreção celular de zinco a nível hepático. Pode-se assim verificar que existem diversos mecanismos fisiopatológicos que permitem explicar o défice em zinco, com alta prevalência, que se verifica nos doentes hepáticos crónicos com cirrose estabelecida.

No estudo dos valores de zinco nas etiologias “álcoolicas” vs “não álcoolicas” verificou-se que em ambos os grupos os valores médios de zinco encontram-se abaixo do limite inferior do normal (6,95 micromol/L e 8,2 micromol/L respectivamente) não se verificando porém uma diferença estatisticamente significativa entre estas médias ($p=0,056$). Apesar disto, verificou-se que o grupo “álcoolicas” apresenta uma percentagem estatisticamente significativa superior de doentes com défice em zinco (91,8% vs 68%, $p=0,009$). Podemos enquadrar esta diminuição dos valores de zinco sérico na etiologia álcoolica, apesar de não estatisticamente significativo, e maior percentagem de doentes com défice pelos seguintes factos. Por um lado, sendo uma etiologia altamente prevalente [1] e muitas vezes associada a outras etiologias concomitantes de DHC é expectável que se observe uma prevalência maior de défice em zinco. Por outro lado, o défice em zinco na etiologia álcoolica possui como mecanismos específicos a sua ingestão diminuída pela má nutrição associada ao consumo álcoolico na cirrose hepática álcoolica, absorção gastrointestinal e transporte transmembranar reduzidos devido a efeitos diretos do álcool na

membrana celular, metabolismo hepático alterado devido à alterações das proteínas transportadores nos hepatócitos pelo aumento das espécies reactivas de oxigénio e por fim aumento da excreção urinária por mecanismos ainda desconhecidos relacionados com o consumo etanólico [42]. Deste modo, estes factos parecem justificar os valores de zinco mais baixos, apesar de não estatisticamente significativos, e prevalência mais alta de défice em zinco na etiologia alcoólica comparativamente às etiologias não alcoólicas.

Os valores de zinco diminuem de maneira estatisticamente significativa com o avançar dos estadios de Child-Pugh, sendo que a prevalência de doentes com défice aumenta marcadamente a partir do estadio B, que apresenta défice em 89,5% dos casos comparativamente ao estadio A 46,7% dos casos. Estes resultados são expectáveis uma vez que os valores de zinco sérico diminuem com o aumento da fibrose hepática [24] e que a escala Child-Pugh é calculada através dos seguintes parâmetros: bilirrubina total, albumina sérica, INR, ascite e encefalopatia hepática. Ora sabendo que os três primeiros parâmetros já foram correlacionados com os valores de zinco sérico [25], e a presença dos dois últimos correlacionados com valores inferiores de zinco sérico [25,26], é lógica a dedução de que o agravamento destes parâmetros, que se traduz num aumento do estadio de Child-Pugh, se associe à uma diminuição dos valores séricos de zinco e aumento da prevalência deste défice. Estes factos fortalecem o potencial do zinco sérico como biomarcador de gravidade na doença hepática crónica, como *Iwata et al* [24] já estabeleceram para o zinco sérico e o risco de ruptura de varizes esofágicas nas hepatites virais crónicas. Deste modo, o valor de zinco sérico poderá ser utilizado como um biomarcador fidedigno e pouco oneroso do estadio de gravidade da doença hepática crónica, bem como possivelmente de algumas das suas complicações. Abre igualmente portas para se estudar a questão se a diminuição do zinco sérico será uma causa ou consequência do agravamento dos estadios de Child-Pugh.

O estudo entre o zinco e MELD mostra uma correlação moderada entre a diminuição dos valores de zinco e o aumento dos valores da escala MELD. Apesar disto apenas foi possível encontrar diminuições estatisticamente significativas entre o 1º escalão (MELD <10) em comparação com o 3º e 4º escalão (MELD 20-29 e MELD 30-39 respectivamente). Isto mostra-nos que a relação entre zinco e MELD não é tão forte e clara como no caso do Child-Pugh, pese embora haja diferenças estatisticamente significativas entre os extremos da escala MELD.

Sengupta et al. [25] observaram igualmente uma diminuição significativa dos valores de zinco e aumento significativo da prevalência de défice a partir dum valor MELD de 15 (90% dos doentes com défice). De maneira semelhante, verificamos que o escalão MELD <10 apresentava défice em zinco em 54,5% dos casos enquanto que a partir do escalão MELD 10-20 a prevalência é de 87,9% dos casos, aumentando nos escalões seguintes. Uma vez que a escala MELD calcula-se através dos valores de bilirrubina total, INR, creatinina sérica e Na⁺ sérico, e sendo os dois primeiro já correlacionados com os valores de zinco sérico [25], refletindo uma insuficiência hepática progressiva, é de se esperar que os valores de zinco diminuam e a prevalência do défice aumente com o aumento do MELD. Estes resultados apontam, se bem que não de maneira tão evidente, no sentido dos valores de zinco sérico como biomarcadores de gravidade da DHC.

A relação entre o zinco e a presença ou ausência de CHC neste estudo mostrou uma diminuição estatisticamente significativa dos valores de zinco sérico em doentes sem CHC comparativamente ao doentes com CHC. Para além disto, doentes sem CHC apresentaram uma prevalência de défice em zinco superior ao esperado e superior aos doentes com CHC (91% vs 70%). Estes resultados vão contra os os mecanismos fisiopatológicos e resultados reportados por artigos já aqui citados, nomeadamente a diminuição dos valores de zinco sérico em doentes com CHC comparativamente aos doentes sem CHC, bem como a importância da diminuição das concentrações de zinco nos hepáticos como possível mecanismo na associação e etiologia do CHC [27-35, 43-45]. Assumimos que este resultado seja explicado, pelo menos em parte, pelo facto de os valores de zinco sérico da maior parte dos doentes com CHC presentes neste estudo terem sido obtidos num contexto de internamento electivo para realização de quimioembolização da sua neoplasia. Deste modo, não se encontravam internados por descompensação da sua doença hepática crónica, ao contrário dos doentes sem CHC. Este facto pode influenciar os valores obtidos de zinco sérico, pois como foi aqui demonstrado o avançar da doença hepática crónica em termos de estadios de Child-Pugh e MELD e a presença de complicações como ascite e/ou encefalopatia hepática refletem-se na diminuição dos valores de zinco sérico. Independentemente dos resultados aqui obtidos, o consenso internacional vai no sentido duma investigação mais profunda do papel do zinco sérico como biomarcador do CHC e principalmente o défice em zinco como potencial factor etiológico da neoplasia hepática. Esta realidade deve continuar a incentivar o estudo dos mecanismos bem como o efeito da suplementação com zinco.

O estudo entre o zinco sérico e os estadios de ascite mostra que quanto mais avançada a ascite mais prevalente o défice em zinco (80% na ausência e 100% no estadio mais grave). Apesar da diminuição da concentração de zinco sérico com o agravamento da ascite, apenas o valor de zinco sérico no estadio “mal controlada por fármacos” (5,20 micromol/L) é estatisticamente inferior aos valores dos estadios “controlado por fármacos” (7,47 micromol/L) e “ausência” (8,23 micromol/L), não havendo diferença estatisticamente significativa entre os doentes sem ascite e doentes com ascite bem controlada. Sabe-se que a presença de ascite e o uso de diuréticos estão associados à valores diminuídos de zinco sérico, bem como a presença de ascite leva a diminuição da ingestão alimentar por distensão gástrica e estimulação precoce da saciedade [25]. Logo, é expectável o défice em zinco na presença de ascite. Porém, em estadios iniciais nem todos os mecanismos de formação de ascite estão associados ao défice em zinco. Este facto pode interpreta-se tendo em conta que os mecanismos fisiopatológicos da formação de ascite não dependem unicamente da CH e HTP, mas também de alterações da função cardíaca e renal, da vasodilatação periférica e esplâncnica com um volume plasmático efectivo diminuído e do estado inflamatório basal do doente com predisposição à infecção por translocação bacteriana. Porém, com o agravamento da ascite, em situações de difícil controlo, aumenta a necessidade de utilização de diuréticos, bem como reflete um agravamento da CH e HTP, coexistindo uma diminuição mais marcada da ingestão alimentar pelo aumento da ascite. Todos estes factores contribuem para a diminuição dos valores de zinco sérico no estadio mais grave de ascite comparativamente aos restantes, tal como representado no presente estudo. Isto reforça a hipótese de se utilizar os valores de zinco sérico como um biomarcador útil na identificação da presença de ascite e de ascites refratárias à terapêutica medicamentosa.

Os valores de zinco encontram-se igualmente diminuídos na encefalopatia hepática, sendo que a prevalência do défice aumenta com a gravidade da encefalopatia (78,4% no estadio “ausência” e 100% no estadio “mal controlada por fármacos”). Verificou-se que há uma diminuição estatisticamente significativa dos valores de zinco entre os doentes sem encefalopatia (8,0 micromol/L) comparativamente aos que apresentam encefalopatia controlada por fármacos (6,20 micromol/L). Não se encontraram diferença estatisticamente significativa entre a encefalopatia bem e mal controlada por fármacos, havendo um ligeiro aumento dos valores de zinco sérico (6,30 -> 6,36 micromol/L respectivamente). O défice em zinco na presença de

encefalopatia hepática já foi descrito na literatura internacional, sendo importante realçar o facto de doentes que apresentem encefalopatia hepática com alterações comportamentais poderem ter um dieta com ingestão inadequada contribuindo para o défice em zinco [25]. Por outro lado, este défice é proposto como um possível mecanismo por condicionar alterações do metabolismo proteico, o que por sua vez aumenta os níveis de amónia, podendo despoletar casos de encefalopatia hepática [16,25,36]. Com base neste pressuposto, *Grungreiff et al.* [26] num *follow up* de longo termo em doentes com cirrose hepática, défice em zinco e encefalopatia hepática de graus 0 à II, demonstraram que a suplementação em zinco levou à um aumento das concentrações de zinco sérico, diminuição da amónia plasmática e, em cerca de metade dos doentes, levou a melhorias dos estados de encefalopatia hepática. Estes factos corroboram os achados aqui obtidos, nomeadamente a diminuição estatisticamente significativa dos valores de zinco sérico nos doentes com encefalopatia hepática bem controlada por fármacos. Pelo mesmo racional, seria esperado observar-se uma diminuição ainda maior dos valores de zinco sérico nos doentes com encefalopatia hepática mal controlada. Esta situação não se verificou neste estudo possivelmente devido ao facto de a classificação utilizada para encefalopatia hepática poder não ter sido exata o suficiente para triar eficazmente os doentes entre os diferentes graus. Deste modo, os resultados aqui obtidos corroboram de maneira geral os achados já descritos noutros estudos reforçando a hipótese de se utilizar os valores de zinco sérico como biomarcador na distinção entre presença e ausência encefalopatia hepática, bem como na sua terapêutica e prevenção.

Em resumo, os resultados aqui obtidos, contextualizados com a literatura já disponível, fortalecem e clarificam a relação do zinco sérico na doença hepática crónica. Nomeadamente a existência dum défice significativo e prevalente, a sua correlação com os estadios de gravidade Child-Pugh e MELD, com as principais complicações (ascite e encefalopatia) e maior prevalência de défice em zinco na etiologia alcoólica. Os resultados aqui obtidos na relação entre zinco sérico e CHC discordantes da literatura internacional foram provavelmente influenciados pelo viés de seleção já referido. Estas correlações sugerem de um modo geral que quanto mais avançada a doença e na presença de complicações maior a diminuição dos valores de zinco sérico, bem como maior a prevalência de défice em zinco. Estas associações aumentam o potencial do zinco como biomarcador pouco invasivo e pouco oneroso para avaliação da progressão da DHC e detecção de complicações. Abre igualmente portas para possíveis investigações sobre o possível papel

etiológico do défice em zinco na progressão e complicações da DHC, especialmente na encefalopatia hepática e no CHC, bem como a oportunidade de se observar os efeitos da suplementação em zinco nas concentrações séricas, gravidade da fibrose hepática, complicações e outcome clínico destes doentes. Há sem dúvida ainda muitas questões por responder, mecanismos a desvendar e correlações por se fazer. O objetivo deste estudo sempre foi o de dar os primeiros passos em Portugal para a investigação sobre o zinco na doença hepática crónica. Que estes primeiros avanços possam servir de base para futuras investigações que permitam aprofundar o conhecimento nesta área, fazendo uma medicina mais eficaz e de excelência para os doentes.

Limitações do Estudo

Todos os doentes incluídos neste estudo apresentam fibrose hepática no grau de cirrose de acordo com a classificação METAVIR. Deste modo assumimos não ter sido possível avaliar a relação do zinco com os diferentes graus de fibrose, mas apenas a partir do estadio de cirrose hepática. Para além disto o viés de seleção de doentes com CHC, cujos valores de zinco sérico da maior parte foram obtidos num contexto de internamento electivo para realização de quimioembolização da sua neoplasia. Deste modo, não se encontravam internados por descompensação da sua doença hepática crónica, ao contrário dos doentes sem carcinoma hepatocelular. Acrescentamos igualmente que não foram estudadas as correlações entre as varizes esofágicas e infecções com os valores de zinco sérico por uma questão de logística na obtenção dos dados. Optou-se por se focar num conjunto menor de variáveis porém com melhor controlo de qualidade na obtenção e tratamento dos dados. Por fim, assumimos que uma amostra de 87 doentes, apesar de ser um número significativo e com critérios de seleção bastante exigentes, poderá não ser uma amostra totalmente representativa das diversas etiologias, estadios de gravidade e complicações da doença hepática crónica.

Agradecimentos

Chegando ao término deste projeto de mais de 1 ano de preparação, estudo e trabalho, culminando uma caminhada de 6 anos, é imperioso proceder aos agradecimentos.

Em primeiro lugar ao meu orientador Professor Doutor Fernando Ramalho pela sua disponibilidade, competência científica e orientação exemplar que ofereceu ao longo desta jornada. Sem a sua liderança este trabalho não seria possível.

Ao Dr. Fábio Cota Medeiros pelo acompanhamento incansável, pelas sugestões extremamente pertinentes e pela amizade de todas as horas.

À Dra. Práticia Santos pela sua disponibilidade e atenção na construção do trabalho.

À minha família que sempre esteve presente. Pelo seu carinho, compreensão, amparo e incentivo neste trajecto de 6 anos que culmina neste trabalho.

Ao Marcelo Amaral, Paul Simon Monteiro e Rita Zungailia por darem mais alegria à minha vida e motivos para continuar sempre.

À minha afilhada Isabela pelo futuro feliz que nos espera.

À todos aqueles com quem trabalhei e convivi neste 6 anos de faculdade, nas aulas, na associação de estudantes, trabalhadores da faculdade e do hospital, o meu muito obrigado de coração à todos.

Concluo com uma frase de Antoine de Saint-Exupéry que sempre ressoa em meus pensamentos. “As pessoas que passam em nossa vida passam sós mas não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si mesmas e levam um pouco de nós mesmos. Esta é a nossa maior responsabilidade”.

Referências bibliográficas

Lista de Referências Enumeradas

1. Portugal. Direcção-Geral da Saúde. Administração Central do Sistema de Saúde, I.P. Rede de Referenciação Hospitalar de Gastroenterologia. - Lisboa: ACSS, 2009.
2. J. Anjoa, A. Café, A. Carvalho, M. Doroana, J. Fraga, J. Gíria, R. Marinho, S. Santosb e J. Velosa. O impacto da hepatite C em Portugal. *Jornal Português de Gastroenterologia*. 2014
3. https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0003731&contexto=bd&selTab=tab2
4. PORTUGAL. Direcção-Geral da Saúde. Direcção de Serviços de Planeamento. Rede de Referenciação Hospitalar de Transplantação. – Lisboa: Direcção-Geral da Saúde, 2003
5. <http://www.asst.min-saude.pt/SiteCollectionDocuments/ColheitaTransplantacao2011.pdf>
6. <http://www.pordata.pt/Portugal/Despesa+corrente+em+cuidados+de+sa%C3%BAd+em+percentagem+do+PIB-610>
7. Ananda S. Prasad. Discovery of Human Zinc Deficiency: Its Impact on Human Health and Disease. *American Society for Nutrition. Adv. Nutr.* 4: 176–190, 2013
8. National Academy of Sciences. Trace elements: zinc. In: *Recommended Dietary Allowances*. 8th rev. ed. Washington, DC: National Academy of Sciences; 1974. p. 99–101.
9. Guidelines for essential trace Element preparation for parenteral use. A statement by an expert panel. *AMA Department of Foods and Nutrition. JAMA*. 1979;241:2051–4
10. Leslie C Costello and Renty B Franklin. The status of zinc in the development of hepatocellular cancer. An important, but neglected, clinically established relationship. *Cancer Biology & Therapy* 15:4, 353–360; April 2014
11. Cavdar AO, Babacan E, Arcasoy A, Ertein U. Effect of nutrition on serum zinc concentration during pregnancy in Turkish women. *Am J Clin Nutr*. 1980;33:542–4.
12. Fisher Walker CL, Lamberti L, Roth D, Black RE. In: Rink L, editor. *Zinc in human health*. Amsterdam, the Netherlands: IOS Press; 2011. p. 234–53.
13. Eby GA, Davis DR, Halcomb WW. Reduction in duration of common cold by zinc gluconate lozenges in a double-blind study. *Antimicrob Agents Chemother*. 1984;25:20–4.

14. Brewer GJ, Yuzbasiyan-Gurkan V. Wilson disease. *Medicine*. 1992;71: 139–64.
15. Brewer GJ. Practical recommendations and new therapies for Wilson's disease. *Drugs*. 1995;50:240–9.
16. K. Grüngreiff. Zinc in Liver Disease. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 15:67-78. 2002.
17. Bert L. Vallee, M.D.[†], Warren E. C. Wacker, M.D.[‡], Anthony F. Bartholomay, and Eugene D. Robin, M.D. Zinc Metabolism in Hepatic Dysfunction - Serum Zinc Concentrations in Laennec's Cirrhosis and Their Validation by Sequential Analysis. *The New England Journal of Medicine*, 1956
18. Scholmerich J, Becher Ms, Kottgen E, Rank N. The importance of portosystemic shunting on zinc and vitamining A metabolism in liver Cirrhosis. *Hepato-gastroenterol* 1983; 30:143.
19. Killerich S, Kjems G, Christiansen C. Zinc depletion in alcoholic liver diseases. *Scand J Gastroenterol* 1980; 15:363
20. Grungreiff K, Presser HJ, Franke D, Lossner B, Kleine FD. Correlations between zinc, amino acids and ammonia in liver chirrrosis. *Z Gastroenterol* 1989; 27:731
21. Keeling PWN, Rose W, Bull J, Hannigan B. Direct measurement of the hepatointestinal extraction of zinc in chirrrosis and hepatitis. *Clin Sci* 1981; 61:441
22. Giroux E, Schechter PJ, Schoun J, Sjoersda A. Reduced binding of added zinc in serum of patients with decompensated hepatic cirrhosis. *Eu J Clin Invest* 1977; 7:77
23. Grungreiff K, Reinhold D, Bank U, Ansorge S. Zytokine, Zink und Magnesium bei chronischen Lebererkrankungen. *Magn Bull* 1994; 16:23
24. Kazunari Iwata, Hirayuki Enomoto, Shuhei Nishiguchi, Nobuhiro Aizawa, Yoshiyuki Sakai, Yoshinori Iwata, Hironori Tanaka, Naoto Ikeda, Tomoyuki Takashima, Masaki Saito, Hiroyasu Imanishi, Hiroko Iijima, Yasuhiro Tsuda, Kazuhide Higuchi. Serum zinc value in patients with hepatitis virusrelated chronic liver disease: association with the histological degree of liver fibrosis and with the severity of varices in compensated cirrhosis. *J. Clin. Biochem. Nutr* Nov 2014; Vol55; n°2; 147-152
25. Shreya Sengupta, Kristen Wroblewski, Andrew Aronsohn, Nancy Reau, K. Gautham Reddy, Donald Jensen, Helen Te. Screening for Zinc Deficiency in Patients with Cirrhosis: When Should We Start? Springer Science+Business Media New York 2015

26. Grungreiff K, Gunfreiff S, Reinhold D. Zinc deficiency and hepatic encephalopathy: results of a long-term follow-up on zinc supplementation. *J Trace Elem Exp Med* 2000; 13:21
27. Danielsen A, Steinnes E. A study of some selected trace elements in normal and cancerous tissue by neutron activation analysis. *J Nucl Med* 1970; 11:260-4; PMID:4316187
28. Leslie C Costello, Renty B Franklin. The status of zinc in the development of hepatocellular cancer An important, but neglected, clinically established relationship. *Cancer Biology & Therapy* 15:4, 353–360; April 2014; © 2014 Landes Bioscience
29. Kazi TG, Kolachi NF, Afridi HI, Kazi NG, Sirajuddin, Naeemullah, Arain SS. Effects of mineral supplementation on liver cirrhotic/cancer male patients. *Biol Trace Elem Res* 2012; 150:81- 90; PMID:22968625; <http://dx.doi.org/10.1007/s12011-012-9501-y>
30. Franklin RB, Costello LC. Zinc as an anti-tumor agent in prostate cancer and in other cancers. *Arch Biochem Biophys* 2007; 463:211-7; PMID:17400177; <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2007.02.033>
31. Franklin RB, Costello LC. The important role of the apoptotic effects of zinc in the development of cancers. *J Cell Biochem* 2009; 106:750-7; PMID:19160419; <http://dx.doi.org/10.1002/jcb.22049>
32. Costello LC, Franklin RB. Cytotoxic/tumor suppressor role of zinc for the treatment of cancer: an enigma and an opportunity. *Expert Rev Anticancer Ther* 2012; 12:121-8; PMID:22149438; <http://dx.doi.org/10.1586/era.11.190>
33. Jayaraman AK, Jayaraman S. Increased level of exogenous zinc induces cytotoxicity and up-regulates the expression of the ZnT-1 zinc transporter gene in pancreatic cancer cells. *J Nutr Biochem* 2011; 22:79-88; PMID:20392624; <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.12.001>
34. Sliwinski T, Czechowska A, Kolodziejczak M, Jajte J, Wisniewska-Jarosinska M, Blasiak J. Zinc salts differentially modulate DNA damage in normal and cancer cells. *Cell Biol Int* 2009; 33:542-7; PMID:19254773; <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellbi.2009.02.004>
35. Liang JY, Liu YY, Zou J, Franklin RB, Costello LC, Feng P. Inhibitory effect of zinc on human prostatic carcinoma cell growth. *Prostate* 1999; 40:200-7; PMID:10398282;

[http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0045\(19990801\)40:3<200::AIDPROS8>3.0.CO;2-3](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0045(19990801)40:3<200::AIDPROS8>3.0.CO;2-3)

36. Kazuhiro Katayama, Mitsuru Sakakibara, Kazuho Imanaka, Kazuyoshi Ohkawa, Takashi Matsunaga, Masafumi Naito, Toshifumi Ito. Effect of zinc supplementation in patients with type C liver cirrhosis. *Open Journal of Gastroenterology*, 2011, 1, 28-34
37. Matsuoka, S., Matsumura, H., Nakamura, H., Oshiro, S., Arakawa, Y., Hayashi, J., Sekine, N., Nirei, K., Yamagu-chi, H., Ogawa, M., Nakajima, N., Amaki, S., Tanaka, N. and Moriyama, M. (2009) Zinc supplementation improves the outcome of chronic hepatitis C and liver cirrhosis. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 45, 292-303. doi:10.3164/jcbrn.jcbrn08-246
38. <http://www.oecd.org/health/health-systems/health-at-a-glance-19991312.htm>
39. http://www.nationmultimedia.com/new/2013/10/22/life/images/30217667-01_big.jpg
40. Faure H, Favier A, Tripier M, Arnaud J. *Biol. Trace Elem. Res.* 1990; 24:25–37. [PubMed:1702657]
41. Costello LC, Fenselau CC, Franklin RB. Evidence for operation of the direct zinc ligand exchange mechanism for trafficking, transport, and reactivity of zinc in mammalian cells. *J Inorg Biochem* 2011; 105:589-99;
42. Patel V.B. *Molecular Aspects of Alcohol and Nutrition* 2015. In: *Molecular Nutrition Series*. 1st edition Elsevier Science Publishing CO INC. 143-153
43. Kew MC, Mallett RC. Hepatic zinc concentrations in primary cancer of the liver. *Br J Cancer* 1974; 29:80- 3; PMID:4820950;
44. Chin-Thin W, Wei-Tun C, Tzu-Ming P, Ren-Tse W. Blood concentrations of selenium, zinc, iron, copper and calcium in patients with hepatocellular carcinoma. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40:1118- 22; PMID:12521229;
45. Pramoolsinsap C, Promvanit N, Komindr S, Lerdverasirikul P, Srianujata S. Serum trace metals in chronic viral hepatitis and hepatocellular carcinoma in Thailand. *J Gastroenterol* 1994; 29:610-5; PMID:8000510;

Anexos

Tabela 1 – Médias de idades

Idade

N	Valid	87
	Missing	0
Mean		60,08
Minimum		27
Maximum		88

Tabela 2 – Distribuição de géneros

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Feminino	23	26,4	26,4	26,4
	Masculino	64	73,6	73,6	100,0
	Total	87	100,0	100,0	

Tabela 3 – Distribuição de etiologias

		Etiologia			
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Alcool	49	56,3	56,3	56,3
	Alcool + Hemocromatose	1	1,1	1,1	57,5
	Alcool + VHB	2	2,3	2,3	59,8
	Alcool + VHC	10	11,5	11,5	71,3
	CBP	2	2,3	2,3	73,6
	CEP	1	1,1	1,1	74,7
	HAI	2	2,3	2,3	77,0
	NASH	2	2,3	2,3	79,3
	NASH + HAI	1	1,1	1,1	80,5
	Overlap 1	1	1,1	1,1	81,6
	Overlap 2	1	1,1	1,1	82,8
	VHB	3	3,4	3,4	86,2
	VHC	11	12,6	12,6	98,9
	Wilson	1	1,1	1,1	100,0
	Total	87	100,0	100,0	

Legenda:

- VHB – Vírus da Hepatite B
- VHC – Vírus da Hepatite C
- CBP – Colangite Biliar Primária
- CEP – Colangite Esclerosante Primária
- NASH – Nonalcoholic Steatohepatitis
- HAI – Hepatite Auto Imune
- Overlap 1 – CBP + HAI
- Overlap 2 – CEP + HAI
- Wilson – Doença de Wilson

Tabela 4 – Valor médio zinco sérico

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Zinco	87	3,0	15,3	7,282	2,5894
Valid N (listwise)	87				

Tabela 5 – Percentagem défice e ausência de défice em zinco na população em estudo

Zinco_Cat		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	Défice	75	86,2	86,2	86,2
	Ausência Défice	12	13,8	13,8	100,0
	Total	87	100,0	100,0	

Tabela 6 – Teste T de Student Zinco vs Etiologia Alcoolica/Não Alcoolica

Group Statistics					
Etiologia		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Zinco	Alcoolica	49	6,951	2,3776	,3397
	Não Alcoolica	25	8,216	3,1370	,6274

Independent Samples Test					
		t-test for Equality of Means			
		t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference
Zinco	Equal variances assumed	-1,939	72	,056	-1,2650
	Equal variances not assumed	-1,773	38,477	,084	-1,2650

Tabela 7 – Teste Chi Quadrado Zinco vs Etiologia Álcoolica/Não Álcoolica

			Zinco_Cat		Total
			Défice	Ausência Défice	
Etiologia	Álcoolica	Count	45	4	49
		Expected Count	41,1	7,9	49,0
		% within Etiologia	91,8%	8,2%	100,0%
		% within Zinco_Cat	72,6%	33,3%	66,2%
		% of Total	60,8%	5,4%	66,2%
	Não Álcoolica	Count	17	8	25
		Expected Count	20,9	4,1	25,0
		% within Etiologia	68,0%	32,0%	100,0%
		% within Zinco_Cat	27,4%	66,7%	33,8%
		% of Total	23,0%	10,8%	33,8%
Total	Count		62	12	74
	Expected Count		62,0	12,0	74,0
	% within Etiologia		83,8%	16,2%	100,0%
	% within Zinco_Cat		100,0%	100,0%	100,0%
	% of Total		83,8%	16,2%	100,0%

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2- sided)	Exact Sig. (1- sided)
Pearson Chi-Square	6,923 ^a	1	,009	,017	,012
Continuity Correction ^b	5,280	1	,022		
Likelihood Ratio	6,547	1	,011		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	6,829	1	,009		
N of Valid Cases	74				

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,05.

b. Computed only for a 2x2 table

Tabela 8 – Valores médios de zinco nos estádios Child-Pugh

Zinco

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
A	15	10,573	2,3849	,6158	9,253	11,894
B	38	7,613	2,0539	,3332	6,938	8,288
C	34	5,459	1,3623	,2336	4,983	5,934
Total	87	7,282	2,5894	,2776	6,730	7,833

Tabela 9 - Percentagem défice e ausência de défice em zinco nos estádios Child-Pugh

Zinco_Cat * CP Crosstabulation

			CP			Total
			A	B	C	
Zinco_Cat	Défice	Count	7	34	34	75
		% within Zinco_Cat	9,3%	45,3%	45,3%	100,0%
		% within CP	46,7%	89,5%	100,0%	86,2%
		% of Total	8,0%	39,1%	39,1%	86,2%
	Ausência Défice	Count	8	4	0	12
		% within Zinco_Cat	66,7%	33,3%	,0%	100,0%
		% within CP	53,3%	10,5%	,0%	13,8%
		% of Total	9,2%	4,6%	,0%	13,8%
Total	Count		15	38	34	87
	% within Zinco_Cat		17,2%	43,7%	39,1%	100,0%
	% within CP		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% of Total		17,2%	43,7%	39,1%	100,0%

Tabela 10 – Teste One Way ANOVA e Bonferroni (Zinco vs Child-Pugh)

ANOVA

Zinco

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	279,675	2	139,838	39,556	,000
Within Groups	296,955	84	3,535		
Total	576,631	86			

Multiple Comparisons

Zinco
Bonferroni

(I) CP	(J) CP	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
A	B	2,9602 [*]	,5733	,000	1,560	4,361
	C	5,1145 [*]	,5828	,000	3,691	6,538
B	A	-2,9602 [*]	,5733	,000	-4,361	-1,560
	C	2,1543 [*]	,4439	,000	1,070	3,239
C	A	-5,1145 [*]	,5828	,000	-6,538	-3,691
	B	-2,1543 [*]	,4439	,000	-3,239	-1,070

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabela 11 - Valores médios de zinco nos estádios MELD

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
<10	11	9,384	2,6219	,7905	7,802	11,125
10-19	58	7,322	2,5692	,3374	6,647	7,998
20-29	15	6,147	1,6681	,4307	5,223	7,070
30-39	3	4,533	1,2097	,6984	1,528	7,538
Total	87	7,282	2,5894	,2776	6,730	7,833

Tabela 12 - Percentagem défice e ausência de défice em zinco nos estádios MELD

			Meld_Cat				Total
			<10	10-19	20-29	30-39	
Zinco_Cat	Défice	Count	6	51	15	3	75
		% within Zinco_Cat	8,0%	68,0%	20,0%	4,0%	100,0%
		% within Meld_Cat	54,5%	87,9%	100,0%	100,0%	86,2%
		% of Total	6,9%	58,6%	17,2%	3,4%	86,2%
	Ausência Défice	Count	5	7	0	0	12
		% within Zinco_Cat	41,7%	58,3%	,0%	,0%	100,0%
		% within Meld_Cat	45,5%	12,1%	,0%	,0%	13,8%
		% of Total	5,7%	8,0%	,0%	,0%	13,8%
Total	Count		11	58	15	3	87
	% within Zinco_Cat		12,6%	66,7%	17,2%	3,4%	100,0%
	% within Meld_Cat		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% of Total		12,6%	66,7%	17,2%	3,4%	100,0%

Tabela 13 - Teste One Way ANOVA e Bonferroni (Zinco vs MELD)

ANOVA

Zinco

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	89,760	3	29,920	5,101	,003
Within Groups	486,870	83	5,866		
Total	576,631	86			

Zinco

Bonferroni

(I) Meld_Cat	(J) Meld_Cat	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
<10	10-19	2,0412 [*]	,7965	,073	-,112	4,194
	20-29	3,2170 [*]	,9614	,007	,618	5,816
	30-39	4,8303 [*]	1,5775	,018	,566	9,094
10-19	<10	-2,0412	,7965	,073	-4,194	,112
	20-29	1,1757	,7016	,585	-,721	3,072
	30-39	2,7891	1,4340	,331	-1,087	6,665
20-29	<10	-3,2170	,9614	,007	-5,816	-,618
	10-19	-1,1757	,7016	,585	-3,072	,721
	30-39	1,6133	1,5318	1,000	-2,527	5,754
30-39	<10	-4,8303	1,5775	,018	-9,094	-,566
	10-19	-2,7891	1,4340	,331	-6,665	1,087
	20-29	-1,6133	1,5318	1,000	-5,754	2,527

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Tabela 14 – Correlação de Spearman (Zinco vs MELD)

Correlations			Zinco	MELD
Spearman's rho	Zinco	Correlation Coefficient	1,000	-,460
		Sig. (2-tailed)	.	,000
		N	87	87
	MELD	Correlation Coefficient	-,460	1,000
		Sig. (2-tailed)	,000	.
		N	87	87

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,468 ^a	,219	,210	4,871

a. Predictors: (Constant), Zinco

b. Dependent Variable: MELD

Tabela 15 - Valores médios de zinco na ausência e presença de carcinoma hepatocelular

CHC		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Zinco	Ausência	67	6,790	2,2928	,2801
	Presença	20	8,930	2,8939	,6471

Tabela 16 – Teste T de Student (Zinco vs Carcinoma Hepatocelular)

Independent Samples Test						95% Confidence Interval of the Difference		
		t-test for Equality of Means				Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
		t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference		Lower	Upper
Zinco	Equal variances assumed	-3,443	85	,001	-2,1404	,6217	-3,3766	-,9043
	Equal variances not assumed	-3,036	26,519	,005	-2,1404	,7051	-3,5885	-,6924

Tabela 17 - Teste Chi Quadrado Zinco vs Carcinoma Hepatocelular

			CHC		Total
			Ausência	Presença	
Zinco_Cat	Défice	Count	61	14	75
		% within Zinco_Cat	81,3%	18,7%	100,0%
		% within CHC	91,0%	70,0%	86,2%
		% of Total	70,1%	16,1%	86,2%
		Adjusted Residual	2,4	-2,4	
	Ausência Défice	Count	6	6	12
		% within Zinco_Cat	50,0%	50,0%	100,0%
		% within CHC	9,0%	30,0%	13,8%
		% of Total	6,9%	6,9%	13,8%
		Adjusted Residual	-2,4	2,4	
Total	Count		67	20	87
	% within Zinco_Cat		77,0%	23,0%	100,0%
	% within CHC		100,0%	100,0%	100,0%
	% of Total		77,0%	23,0%	100,0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	5,737 ^a	1	,017	,027	,027
Continuity Correction ^b	4,103	1	,043		
Likelihood Ratio	4,971	1	,026		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	5,671	1	,017		
N of Valid Cases	87				

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,76.

b. Computed only for a 2x2 table

Tabela 18 - Valores médios de zinco nos estádios de ascite

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
Ausência	45	8,264	2,5484	,3799
Controlada por Fármacos	19	7,468	2,3965	,5498
Mal Controlada por Fármacos	23	5,204	1,4163	,2953
Total	87	7,282	2,5894	,2776

Tabela 19 - Percentagem défice e ausência de défice em zinco nos estádios de ascite

			Ascite			Total
			Ausência	Controlada por Fármacos	Mai Controlada por Fármacos	
Zinco_Cat	Défice	Count	36	16	23	75
		% within Zinco_Cat	48,0%	21,3%	30,7%	100,0%
		% within Ascite	80,0%	84,2%	100,0%	86,2%
		% of Total	41,4%	18,4%	26,4%	86,2%
		Adjusted Residual	-1,7	-,3	2,2	
	Ausência Défice	Count	9	3	0	12
		% within Zinco_Cat	75,0%	25,0%	,0%	100,0%
		% within Ascite	20,0%	15,8%	,0%	13,8%
		% of Total	10,3%	3,4%	,0%	13,8%
		Adjusted Residual	1,7	,3	-2,2	
Total	Count		45	19	23	87
	% within Zinco_Cat		51,7%	21,8%	26,4%	100,0%
	% within Ascite		100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
	% of Total		51,7%	21,8%	26,4%	100,0%

Tabela 20 - Teste One Way ANOVA e Bonferroni (Zinco vs Ascite)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	143,377	2	71,688	13,899	,000
Within Groups	433,254	84	5,158		
Total	576,631	86			

(I) Ascite	(J) Ascite	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ausência	Controlada por Fármacos	,7980	,8214	,811	-,722	2,314
	Mal Controlada por Fármacos	3,0801 [*]	,5821	,000	1,638	4,482
Controlada por Fármacos	Ausência	-,7980	,8214	,811	-2,314	,722
	Mal Controlada por Fármacos	2,2641 [*]	,7041	,006	,544	3,984
Mal Controlada por Fármacos	Ausência	-3,0801 [*]	,5821	,000	-4,482	-1,638
	Controlada por Fármacos	-2,2641 [*]	,7041	,006	-3,984	-,544

Tabela 21 - Valores médios de zinco nos estádios de encefalopatia hepática

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Ausência	51	8,000	2,8787	,4031	7,190	8,810	3,0	15,3
Controlada por Fármacos	21	6,195	1,9014	,4149	5,330	7,061	3,5	11,1
Mal Controlada por Fármacos	15	6,360	1,3663	,3528	5,603	7,117	4,1	8,5
Total	87	7,282	2,5894	,2776	6,730	7,833	3,0	15,3

Tabela 22 - Percentagem défice e ausência de défice em zinco nos estádios de encefalopatia hepática

			EH		
			Ausência	Controlada por Fármacos	Mai Controlada por Fármacos
Zinco_Cat	Défice	Count	40	20	15
		% within Zinco_Cat	53,3%	26,7%	20,0%
		% within EH	78,4%	95,2%	100,0%
		% of Total	46,0%	23,0%	17,2%
		Adjusted Residual	-2,5	1,4	1,7
	Ausência	Count	11	1	0
		% within Zinco_Cat	91,7%	8,3%	,0%
		% within EH	21,6%	4,8%	,0%
		% of Total	12,6%	1,1%	,0%
		Adjusted Residual	2,5	-1,4	-1,7
Total	Count	51	21	15	
	% within Zinco_Cat	58,6%	24,1%	17,2%	
	% within EH	100,0%	100,0%	100,0%	
	% of Total	58,6%	24,1%	17,2%	

Tabela 23 - Teste One Way ANOVA e Bonferroni (Zinco vs Encefalopatia Hepática)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	63,845	2	31,923	5,229	,007
Within Groups	512,786	84	6,105		
Total	578,631	86			

(I) EH	(J) EH	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ausência	Controlada por Fármacos	1,8048	,6406	,018	,240	3,370
	Mal Controlada por Fármacos	1,6400	,7257	,079	-,133	3,413
Controlada por Fármacos	Ausência	-1,8048	,6406	,018	-3,370	-,240
	Mal Controlada por Fármacos	-,1648	,8353	1,000	-2,205	1,876
Mal Controlada por Fármacos	Ausência	-1,6400	,7257	,079	-3,413	,133
	Controlada por Fármacos	,1648	,8353	1,000	-1,876	2,205